

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-345451

(43)Date of publication of application : 03.12.2002

(51)Int.Cl.

C12M 1/34  
G01N 21/64  
G01N 27/447  
G01N 33/561  
G01N 33/569

(21)Application number : 2001-155670

(71)Applicant : MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD

(22)Date of filing : 24.05.2001

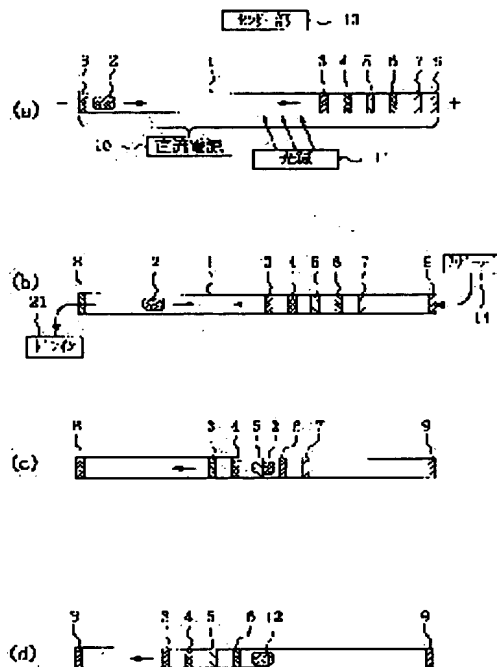
(72)Inventor : YAMASHITA ICHIRO

## (54) DETECTOR FOR MICROORGANISM AND METHOD FOR DETECTING THE SAME

### (57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide a means and method accurately detecting/identifying microorganism in a short time.

**SOLUTION:** The detector for microorganisms is provided with a DC power source 10, a positive terminal 9 and a negative terminal 8, a tubular glass capillary 1 having the positive terminal 9 on one end and the negative terminal 8 on the other end and filled with a buffer solution, a reservoir 14 for supplying the buffer solution, an injector valve connected to the positive terminal 9 for injecting an antibody, an antibody reservoir regulating the amount of the injecting antibody and connected to the injector valve, a light source illuminating light to the capillary 1, and a sensor part 13 measuring the scattered light from the capillary 1. The antibody and the microorganisms 2 move in opposite direction when a voltage is applied to the capillary 1, and a microorganism-antibody complex 12 is formed when the microorganisms 2 meet with the antibody recognizing the microorganisms 2, and as a result, the detection/identification is accurately carried out in a short time.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開2002-345451

(P2002-345451A)

(43)公開日 平成14年12月3日(2002.12.3)

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 M 1/34		C 1 2 M 1/34	F 2 G 0 4 3
G 0 1 N 21/64		G 0 1 N 21/64	F 4 B 0 2 9
27/447		33/561	
33/561		33/569	B
33/569		27/26	3 3 1 E

審査請求 未請求 請求項の数14 O L (全 9 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001-155670(P2001-155670)

(22)出願日 平成13年5月24日(2001.5.24)

(71)出願人 000005821

松下電器産業株式会社

大阪府門真市大字門真1006番地

(72)発明者 山下 一郎

大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器  
産業株式会社内

(74)代理人 100077931

弁理士 前田 弘 (外7名)

Fターム(参考) 2G043 AA01 BA16 CA03 DA02 EA01

EA19 GA07 GB21

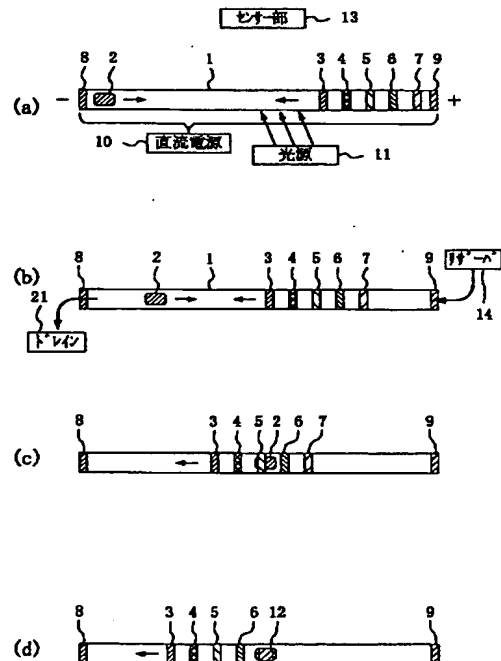
4B029 AA07 BB02 CC01 FA03

(54)【発明の名称】 微生物検出装置及び微生物の検出方法

(57)【要約】

【課題】 微生物を短時間で高精度に検出・同定する手段及び方法を提供する。

【解決手段】 微生物検出装置は、直流電源10と、プラス電極9及びマイナス電極8と、一方の端にプラス電極9を、他端にマイナス電極8を有し、緩衝液で満たされた筒状のガラス製キャピラリー1と、緩衝液供給用のリザーバ14と、キャピラリー1のプラス電極9側に接続された抗体注入用の注入バルブと、注入バルブに接続され、注入する抗体量を調節する抗体リザーバと、キャピラリー1に光を照射する光源11と、キャピラリー1からの散乱光を測定するセンサー部13とを備えている。キャピラリー1に電圧を印加すると、抗体と細菌2とは対向方向に移動し、細菌2と細菌2を認識する抗体とが交われば、細菌-抗体複合体12が形成され、短時間で精度良く細菌が検出・同定される。



## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 光透過性物質からなり、被検体と被検体を同定するための物質とを含む緩衝液を満たすための通路を有する容器と、

上記容器に 1 つずつ設けられた高電位側電極及び低電位側電極と、

上記容器の側方から光線を照射する光源と、

上記容器から入射した光線をモニターするセンサー部とを備えた微生物検出装置であって、

検出動作時には、電極間に電圧を印加することにより電気泳動を行なうことが可能に構成された微生物検出装置。

【請求項 2】 請求項 1 に記載の微生物検出装置において、

上記被検体は表面が負電荷を帯びており、細菌、細菌の破砕液及び細菌が持つタンパク質のうちのいずれかであることを特徴とする微生物検出装置。

【請求項 3】 請求項 1 または 2 に記載の微生物検出装置において、

上記被検体を同定するための物質が抗体であることを特徴とする微生物検出装置。

【請求項 4】 請求項 1 ～ 3 のうちいずれか 1 つに記載の微生物検出装置において、

上記容器が直径 5  $\mu\text{m}$  以上 100  $\mu\text{m}$  以下の筒状のキャピラリーであることを特徴とする微生物検出装置。

【請求項 5】 請求項 1 ～ 3 のうちいずれか 1 つに記載の微生物検出装置において、

上記容器が、溝を形成したガラス基板と上部ガラス板とを接着することにより形成されることを特徴とする微生物検出装置。

【請求項 6】 請求項 1 ～ 5 のうちいずれか 1 つに記載の微生物検出装置において、

上記容器が複数個並列に配置され、各容器で同時に電気泳動が行なわれるように構成されていることを特徴とする微生物検出装置。

【請求項 7】 請求項 1 ～ 6 のうちいずれか 1 つに記載の微生物検出装置において、

上記容器内の緩衝液に印加する電界は 1 - 100 kV/m であることを特徴とする微生物検出装置。

【請求項 8】 請求項 1 ～ 7 のうちいずれか 1 つに記載の微生物検出装置において、

上記容器の上記通路の壁には抗体を注入するための孔が設けられていることを特徴とする微生物検出装置。

【請求項 9】 請求項 3 ～ 8 のうちいずれか 1 つに記載の微生物検出装置において、

上記抗体は蛍光標識されていることを特徴とする微生物検出装置。

【請求項 10】 請求項 1 ～ 9 のうちいずれか 1 つに記載の微生物検出装置において、

上記緩衝液の pH は 6 - 8 の範囲であることを特徴とす

る微生物検出装置。

【請求項 11】 緩衝液を満たすための通路を有する容器の高電位側電極に近い部位に抗体を注入するステップ (a) と、

上記容器の上記低電位側電極に近い部位に被検体を注入するステップ (b) と、

上記高電位側電極及び上記低電位側電極を介して上記容器内の緩衝液に電界を印加し、電気泳動を行なうステップ (c) と、

被検体と抗体とが反応した場合に被検体-抗体複合体による入射光の変化を検出して被検体の同定を行なうステップ (d) とを含む微生物の検出方法。

【請求項 12】 請求項 11 に記載の微生物の検出方法において、

上記ステップ (a) では、1 つの上記容器につき複数の抗体を一定間隔をあけて注入することを特徴とする微生物の検出方法。

【請求項 13】 請求項 11 または 12 に記載の微生物の検出方法において、

上記ステップ (a) では上記抗体は蛍光標識されており、

上記ステップ (d) では被検体-抗体複合体からの蛍光を検出することを特徴とする微生物の検出方法。

【請求項 14】 請求項 11 ～ 13 のうちいずれか 1 つに記載の微生物の検出方法において、

ステップ (a) では、上記容器が複数個並列に配置され、同時に電気泳動が行なわれることを特徴とする微生物の検出方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は微生物の検出装置及び微生物の検出方法に関し、特に抗原抗体反応を利用した微生物の検出装置及び微生物の検出方法に関する。

【0002】

【従来の技術】細菌による感染症では、その原因となっている細菌の種類によって有効な抗生物質が異なる。例えば、病原性大腸菌 O157 の感染とサルモネラ菌の感染とでは初期の対処方法が異なり、もし O157 の感染の場合にサルモネラ菌に有効な薬剤を投与すると、治療にならないばかりか細菌毒素の分泌により致命的な結果を招く可能性がある。また、一般的に微生物の感染症は症状が急激に進行することが多いため、感染症の治療には、その病原菌を迅速に特定することが強く望まれている。

【0003】抗原抗体反応は特異性が高いため、細菌の種類を同定する際に以前から利用されてきた。抗原抗体反応を利用した細菌の検出方法として、ELISA 法が知られている。

【0004】図 8 (a) ～ (c) は、ELISA 法を用いた従来の微生物検出方法を示す図である。以下同図を

用いて従来の細菌検出方法について説明する。

【0005】まず、図8(a)に示すステップで、細菌の汚染を検査するために食品102の一部を試料101として取り、培地104を入れたフラスコ103に入れる。

【0006】次に、図8(b)に示すステップで、37℃で8時間以上フラスコ103を振とうさせて試料101に含まれる細菌を培養する。

【0007】次に、図8(c)に示すステップで、調べたい細菌を認識する抗体をウェルに固定したマイクロプレート105を用意し、このマイクロプレート105のウェルに培養液を適量入れる。別のウェルにはネガティブコントロールとして例えば水などを、また別のウェルにはポジティブコントロールとして検査したい菌を含む液をそれぞれ適量入れる。20分程度経過した後液を捨て、ウェルを洗浄し、酵素標識抗体液を各ウェルに入れ、10分程度反応させる。その後、液を捨ててウェルを洗浄し、反応の基質液を各ウェルに加えた後反応を止め、マイクロプレートリーダーで吸光度を測定する。試料101に調べたい細菌が含まれている場合は、吸光度が大きくなる。

【0008】この方法では、食品などを試料とする場合は細菌数が少ないため培養が必要であるが、感染症患者の糞便を検査する場合は、培養をする必要はない。

【0009】この方法によれば、抗体を用いているため、目的の細菌を正確に検出することができる。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、従来の方法では、特に細菌数の少ない試料を検査する場合に細菌の培養が必要であるため、迅速な検査ができないという不具合があった。

【0011】目的の細菌が分かっている場合、例えば0157の場合では、抗ベロ毒素抗体などを用いる方法や、ベロ毒素を作る遺伝子を検出する方法などがあるが、いずれも数時間以上必要であること、不特定多数の細菌の検査を行なえないことなどの不具合は残されている。

【0012】本発明の目的は、細菌を高精度且つ短時間で検出・同定する装置及び細菌の高精度な検出・同定方法を提供し、感染症治療の一助とすることにある。

【0013】

【課題を解決するための手段】本発明の微生物検出装置は、光透過性物質からなり、被検体と被検体を同定するための物質とを含む緩衝液を満たすための通路を有する容器と、上記容器に1つずつ設けられた高電位側電極及び低電位側電極と、上記容器の側方から光線を照射する光源と、上記容器から入射した光線をモニターするセンサー部とを備えた微生物検出装置であって、検出動作時には、電極間に電圧を印加することにより電気泳動を行なうことが可能に構成されている。

【0014】これにより、電気泳動を利用して短時間で被検体の同定を行なうことができる。

【0015】また、上記被検体は表面が負電荷を帯びており、細菌、細菌の破砕液及び細菌が持つタンパク質のうちのいずれかであることにより、電気泳動によりプラス電極方向へ移動してゆくので、被検体の検出時間が短くすることができる。

【0016】また、上記被検体を同定するための物質が抗体であることにより、pH6-8のときにはほぼ電荷を持たず、キャピラリー表面の近傍に流れる電気浸透流に乗ってマイナス電極方向へ移動することができる。この場合、抗体とプラス電極方向に移動する被検体とが短時間で反応し、被検体を同定することができる。また、抗体は反応の特異性が高いため、これを用いることにより、被検体の同定が正確にできる。

【0017】上記容器が直径5μm以上100μm以下の筒状のキャピラリーであることにより、キャピラリー中での抗体の拡散が抑制され、微生物の検出が正確に行われる。

【0018】上記容器が、溝を形成したガラス基板と上部ガラス板とを接着することにより形成されることにより、容易に電気泳動用の容器を作成できる。

【0019】上記容器が複数個並列に配置され、各容器で同時に電気泳動が行なわれるように構成されていることにより、抗体を複数個用いる場合に検出が容易になり、また、センサー部でモニターする領域を小さくできるので、装置の設計が容易になる。

【0020】また、上記容器内の緩衝液に印加する電界は1-100kV/mであることにより、適当な時間で被検体を検出することができる。

【0021】また、上記容器の上記通路の壁には抗体を注入するための孔が設けられている。

【0022】これにより、複数の抗体を使用する場合、各抗体を等間隔をあけて容易に注入することができ、被検体の同定が可能となる。

【0023】また、上記抗体は蛍光標識されていることにより、被検体を同定する感度を高くすることができる。また、各抗体に互いに異なる蛍光標識を施せば、検査の正確さを向上させることができる。

【0024】上記緩衝液のpHは6-8の範囲であることにより、抗体はほぼ電荷を持たず、被検体は負電荷を持つ状態に保つことができ、電気浸透流に乗ってマイナス電極方向へ移動する抗体と電気泳動によりプラス電極へと移動する被検体とを相交わらせて被検体の検査を短時間で進めることができる。

【0025】本発明の微生物の検出方法は、緩衝液を満たすための通路を有する容器の高電位側電極に近い部位に抗体を注入するステップ(a)と、上記容器の上記低電位側電極に近い部位に被検体を注入するステップ

(b)と、上記高電位側電極及び上記低電位側電極を介

して上記容器内の緩衝液に電界を印加し、電気泳動を行なうステップ(c)と、被検体と抗体とが反応した場合に被検体-抗体複合体による入射光の変化を検出して被検体の同定を行なうステップ(d)とを含んでいる。

【0026】この方法により、従来必要であった被検体に含まれる菌の培養が不要となり、短時間で微生物検査を行なうことができる。また、抗体は反応の特異性が高いという性質を持っているので、精度の高い検査を行なうことができる。

【0027】また、上記ステップ(a)では、1つの上記容器につき複数の抗体を一定間隔をあけて注入することにより、被検体の量を変えずに複数の微生物について検査を行うことができるので、微生物の検出を短時間で

行なうことができ、被検体に含まれる微生物が特定できていない場合に特に有効である。

【0028】さらに、上記ステップ(a)では上記抗体は蛍光標識されており、上記ステップ(d)では被検体-抗体複合体からの蛍光を検出することにより、検査の感度を向上させることができる。また、抗体ごとに異なる蛍光標識を施すことで、細菌の同定を容易に行なえるようにできる。

【0029】また、ステップ(a)では、上記容器が複数個並列に配置され、同時に電気泳動が行なわれることにより、一度の電気泳動で複数の細菌について検査することができる。また、各容器ごとに異なる被検体を検査することもできるので、検査の効率を向上させることができる。

【0030】

【発明の実施の形態】(第1の実施形態) 一般に、ガラスは通常pH4程度より高いpHにおいては表面がマイナス電荷を持っており、pH6-8の条件下ではその表面にカウンターイオンとして正の電荷を持ったイオンが滞留し電気二重層を形成している。ガラス管にpH6-8の緩衝液を満たしてこの液に電界を加えると、ガラス表面から100μm以内の液中では、正電荷を持ったイオンが電界に沿ってマイナス電極の方向へ流れが形成される。これを電気浸透流と呼ぶ。そのため、ガラス管の直径が100μm程度の一方の端をプラス(高電位)電極に、他端をマイナス(低電位)電極に接続して電界を加えると、緩衝液はプラス電極からマイナス電極へと管内を流れる。中性か、電荷をわずかしかなかった物質であればこの電気浸透流に乗ってマイナス電極の方向へ移動していく。例えば、抗原抗体反応を生じる抗体はpH6-7に等電点を持つため、pHを6.5付近に設定するとこの電気浸透流に乗ってマイナス電極へ向かって流れていく。

【0031】一方、細菌の細胞壁はpH6-8の生理的条件下で表面にマイナス電荷を有していることが多く、これらが存在する溶液に電界を加えると細菌の細胞はプラス電極に引かれていく。このように、電荷を持つ物質を

含む溶液に電流を流して物質を分離する操作を電気泳動と呼ぶ。

【0032】直径100μm程度の細管の中に細菌を入れて電界を加えると、電気浸透流は細菌をマイナス極側へ流そうとし、電気泳動による力はプラス極側へ向かわせるように働く。その結果、両者の力のバランスによって細菌の移動方向が決定されるが、通常は細菌の電気泳動のほうが力が大きいのでプラス電極へ向かって流れていく。このことは、緩衝液のpHを6.5付近に設定すると細菌と抗体とは互いに逆方向に流れることを意味している。

【0033】本実施形態は、この電気浸透流と電気泳動を利用した微生物の検出装置である。

【0034】図1(a)~(d)は、本発明の第1の実施形態に係る微生物検出装置の動作を示す断面図である。本実施形態の微生物検出装置は、直流電源10と、直流電源10に接続されたプラス電極9及びマイナス電極8と、一方の端にプラス電極9を、他端にマイナス電極8を有し、内側がpH6.5の緩衝液で満たされた筒状のガラスからなる直径30μmで長さ1cmのキャピラリー1と、キャピラリー1に接続され、キャピラリー1に緩衝液を供給するリザーバ14と、キャピラリー1を通過した緩衝液を排出するドレイン21と、キャピラリー1のプラス電極9側に接続され、抗体を注入するための注入バルブと、注入バルブに接続され、注入する抗体量を調節する機能を持つ抗体リザーバと、キャピラリー1に光を照射する光源11と、キャピラリー1からの散乱光を測定するセンサー部13とを備えている。

【0035】また、キャピラリー1のプラス電極9側には、互いに等間隔に設けられた複数の孔が開いており、ここを通して注入バルブから各抗体を含む溶液が注入される。

【0036】なお、光源11はキャピラリー1の側方に位置し、センサー部13はキャピラリー1に対して垂直方向に置かれている。センサー部13は、キャピラリー1により散乱された光源11からの光を測定している。

【0037】次に、本実施形態の微生物検出方法を図1(a)~(d)を用いて説明する。

【0038】まず、図1(a)に示すステップで、キャピラリー1のマイナス電極8側に被検体の細菌2を含んだ溶液を微量入れ、プラス電極側には注入バルブから5種類の抗細菌抗体3~7を互いに等間隔で配置する。続いてキャピラリー1の両端の電極を通して直流電源10より1-100kV/mの電界を印加する。

【0039】次に、図1(b)に示すステップで、細菌2はプラス電極9の方向に引かれていき、抗体3~7は電気浸透流に乗ってマイナス電極8方向へと進む。リザーバ14からは常にpH6.5の緩衝液が供給され、マイナス電極8に達した緩衝液はドレインから装置外へと排出される。

【0040】なお、直径100 $\mu$ m以下のキャピラリー内では溶液は簡単には拡散混合されないこと、各抗体の分子量はほぼ等しいことから、電気泳動中の抗体3〜7は等間隔を保ったままマイナス電極8の方向へ移動していく。

【0041】次に、図1(c)に示すステップで、被験体の細菌2と抗体3、抗体4、抗体5とがキャピラリー1内で順次すれ違うが、この例では反応せずに通過する。これは、被験体の細菌2を認識しない抗体と細菌2とは結合しないため、そのまま交差してしまうためである。この例では、被験体の細菌2が抗体3、抗体4、抗体5が認識する細菌ではないことを意味する。

【0042】その後、図1(d)に示すステップで、被験体の細菌2は抗体6と反応せずに通過し、抗体7と結合して凝集し、生成した細菌-抗体複合体12が沈降する。すると、抗原抗体反応による光の散乱の変化をセンサー部13で感知し、反応が起こった位置が分かる。電気泳動速度は電圧により一定であるため、反応を開始した位置を把握できればどの抗体と反応したかが直ちに判明する。また、反応するまでの時間を測定することによっても、どの抗体と反応したかが判別できる。これにより、被験体の細菌2は同定される。

【0043】なお、電気泳動に必要な時間はどの抗体と反応するかで多少異なるが、ほぼ0.1〜10分程度であり、従来の方法に比べて検査時間を大幅に短縮することができる。

【0044】通常、抗体溶液は可視光を照射しても透明であり緩衝液と区別がつかない。さらに細菌も数 $\mu$ mの大きさであるため、濃度が低いと光の散乱は極めて小さい。しかし、抗原抗体反応で細菌-抗体複合体12が凝集すると、可視光の散乱が強くなり細菌濃度が低くても容易に検出できるようになる。

【0045】なお、ここでは細菌2が抗体7と結合する例を挙げたが、細菌の種類が異なれば他の抗体と結合する。すなわち、複数の抗体のどれと反応するかによって被検体の細菌の種類が同定できる。

【0046】なお、キャピラリーに複数の抗体溶液を互いに間隔をあけて配置する方法としては、端部より順に抗体溶液と緩衝液を注入する方法をとる。

【0047】図2は、本実施形態で用いられるキャピラリーの断面図である。より迅速に配置するためには、同図に示した様な複数の微小孔15を利用することが望ましい。キャピラリーに微小孔15を設け、ここから抗体を含んだ溶液をキャピラリー内に注入する。このとき微小孔15を通して抗体溶液を入れる時、注入する順序をずらすようにすれば抗体溶液が等間隔に配置できる。

【0048】図3、図4は、本実施形態の微生物検出方法において、抗体をキャピラリーに注入する方法を示す断面図である。図3に示す例のように、バルブを用いて始めに中心部の孔から抗体の注入を行ない、次いで両横

の孔から、その次にさらにその横の孔からと順次注入を行えば、分離された抗体溶液が迅速に等間隔に注入ができる。また、図4に示すように一方向から注入を行っても同様に迅速に分離された抗体溶液を注入できる。

【0049】本実施形態の微生物検出装置によれば、キャピラリー1の長さが1cmと短いため、抗体を用いたELISA法などの微生物検出方法に比べ、極めて短時間で微生物を検出・同定することができる。また、抗体の認識反応は特異性が高いことから、信頼性の高い同定結果を得ることができる。これにより、例えば食中毒の場合など、原因菌に応じた治療を迅速に行なえる。

【0050】本実施形態においては、用いた抗体は5種類であったが、目的に応じて抗体の種類を増やすこともできる。このときも、各抗体を等間隔でキャピラリー1内に配置するように注入するので、用いる抗体の種類が増えた場合、キャピラリー1の長さを1cm以上にし、抗体間の間隔を確保する。ここで、抗体の種類を増やした場合も、被験体の菌数を増やす必要がない。

【0051】本実施形態の微生物検出装置において、一度に多数の抗体を用いることは、感染症の原因菌の候補が絞れていない場合に有効である。また、抗体の種類を増やしても被験体の菌数を増やす必要がないので、菌体を培養する時間を節約し、迅速な細菌の同定を行なうことができる。

【0052】また、ここでは被験体として細菌を含む菌液を用いたが、細菌を破碎した後の溶液にも細胞壁は含まれているため、これを被験体として用いることもできる。

【0053】その他、同定したい細菌が特異的に持つタンパク質などを被験体として用いてもよい。このときは、目的のタンパク質を認識する抗体を用いることと、被験体のタンパク質が負電荷を帯びていることが条件となる。

【0054】なお、本実施形態の微生物検出方法において、電気泳動とともに発生する電気浸透流を利用したが、必ずしも電気浸透流が発生していなくても、被検体がプラス電極方向へ向かって移動するので、問題なく検査を行うことができる。ただし、その場合はやや検出時間が遅くなる。電気浸透流が発生しない条件の例としては、pHが8以上の場合や、キャピラリーとしてガラス以外の材質が用いられた場合などが挙げられる。

【0055】また、本実施形態の微生物検出方法において、キャピラリー1の両端に印加する電圧は1〜100kV/mである。

【0056】また、本実施形態で用いたキャピラリー1の直径は30 $\mu$ mであったが、直径100 $\mu$ m以下であれば加えた抗体が拡散することなく電気泳動できる。ただし、直径20〜40 $\mu$ mであることが好ましい。

【0057】なお、本実施形態で使用する抗体はモノクローナル、ポリクローナルを問わない。

【0058】また、本実施形態においては緩衝液のpHを6.5としたが、抗体が電荷を持たないpH6-8の範囲であればよい。

【0059】また図5は、本実施形態の微生物検出装置に使用できるキャピラリーの例を示す図である。本実施形態において、電気泳動をキャピラリー1内で行なったが、同図に示すようにキャピラリー1の代わりとして、一部に凹部を設けたガラス基板17の上にその凹部を覆うようにガラス板16をかぶせ、これを下のガラス基板17と融着させることで作成したものをを用いてもよい。

【0060】また、本実施形態の微生物検出装置において、電気浸透流による抗体の移動を利用したが、抗体がプラス電荷を持つように緩衝液のpHを調整することにより、両者の電気泳動により反応を行わせることもできる。この場合、電気浸透流を利用する方法よりも、さらに検出時間を短縮することが可能である。

【0061】また、図6(a)~(c)は本実施形態の微生物検出装置に使用できるキャピラリーの形状を示した図であるが、直線状のキャピラリー以外にも、キャピラリー23は図6(a)に示すように基板22上に配置して折り返してあってもよいし、図6(b)に示すように渦巻き状であってもよい。また、図6(c)に示すようにらせん状など立体的に配置されてもよい。ここで、キャピラリーを長くすることにより、より多種類の抗体を注入することが可能になる。また、キャピラリーを折り返すことにより、装置のスペースを小さくするとともに、光を検出するセンサー部の面積を小さくすることができ、装置の設計を容易にすることができる。

【0062】また、本実施形態の微生物検出方法では、細菌-抗体複合体の形成を光の散乱により検出したが、これに代えてフルオレセイン等で蛍光標識した抗体を用いて細菌-抗体複合体の形成を蛍光により検出することもできる。この方法により、微生物の検出感度をさらに上げることができる。

【0063】さらに、各抗体に互いに異なる蛍光標識をすることにより、確実かつ高感度に細菌の同定を行なうこともできる。

【0064】(第2の実施形態)図7は、本発明の第2の実施形態の微生物検出装置を示す図である。

【0065】同図に示すように、本実施形態の微生物検出装置は、直流電源10と、直流電源10に接続されたプラス電極9及びマイナス電極8と、一方の端にプラス電極9を、他端にマイナス電極8を有し、直流電源10に対して並列に接続された内側をpH6.5の緩衝液で満たされた筒状のガラスからなる直径30 $\mu$ mで長さ1cmのキャピラリー18、キャピラリー19、キャピラリー20と、キャピラリー18、キャピラリー19、キャピラリー20のそれぞれに接続され、キャピラリー18、キャピラリー19、キャピラリー20に緩衝液を供給するリザーバ14(図7に示さず)と、キャピラリー

18、キャピラリー19、キャピラリー20を通過した緩衝液を排出するドレイン21(図7に示さず)と、キャピラリー18、キャピラリー19、キャピラリー20の各プラス電極9側に接続され、抗体を注入するための注入バルブと、注入バルブに接続され、注入する抗体量を調節する機能を持つ抗体リザーバと、キャピラリー18、キャピラリー19、キャピラリー20に光を照射する光源11と、ピラリ-18、キャピラリー19、キャピラリー20からの散乱光を測定するセンサー部13とを備えている。

【0066】なお、抗体を注入するための孔は、第1の実施形態とは異なり、1つのキャピラリーにつき1つである。

【0067】次に、本実施形態の微生物検出方法は次の通りである。

【0068】まず、キャピラリー18、キャピラリー19、キャピラリー20のそれぞれのマイナス電極8側に被検体の細菌2を含む液を注入した後、プラス電極9側の抗体を注入するための孔からはば同時に各キャピラリーに抗体3~5をそれぞれ注入し、1-100kV/mの電界をキャピラリー18、キャピラリー19、キャピラリー20のそれぞれに印加する。

【0069】次いで、キャピラリー内に電界を印加し続けると、被検体の細菌2を認識する抗体4が細菌2と細菌-抗体複合体12を形成し、沈降する。すると、センサー部が光の散乱を検出し、キャピラリー19内で細菌-抗体複合体12を形成されたことが分かり、被検体の細菌が同定される。電気泳動に要する時間は第1の実施形態の微生物検出装置よりもさらに短く、10分以下である。

【0070】本実施形態の微生物検出装置においては、複数のキャピラリーが電源に対して並列に接続されているため、第1の実施形態の微生物検出装置よりもさらに短時間で細菌を検出・同定することができる。

【0071】また、抗体及び細菌の移動速度はほぼ一定であるので、センサー部はキャピラリー18、キャピラリー19、キャピラリー20のそれぞれ一部分をモニターするだけでよく、装置の設計が容易になる。

【0072】また、本実施形態においては1つのキャピラリーに1種類の抗体を注入したが、各キャピラリーに複数の抗体を一定間隔を空けて注入することにより、細菌2の種類が不明な場合に、より多種類の試験を同時に行なうことができる。この方法により、複数の被験体を同時に検査することもできる。

【0073】また、本実施形態の微生物検出装置においても、キャピラリーの長さを1cm以上にしてもよいし、キャピラリーの形状は直線以外に折り返しがあってもよいし、らせん状などでもよい。

【0074】また、本実施形態で用いたキャピラリーの直径は30 $\mu$ mであったが、直径100 $\mu$ m以下であれ

11

ば加えた抗体が拡散することなく電気泳動できる。ただし、直径20～40 $\mu$ mであることが好ましい。

【0075】また、本実施形態の微生物検出装置において、電気浸透流による抗体の移動を利用したが、抗体がプラス電荷を持つように緩衝液のpHを調整することにより、両者の電気泳動により反応を行なわせることもできる。この場合、電気浸透流を利用する方法よりも、さらに検出時間を短縮することが可能である。

【0076】また、キャピラリー内の緩衝液がpH8以上の場合やキャピラリーの材質がガラス以外である場合など、電気浸透流が発生しない条件であっても細菌がプラス電極方向へ移動するので、検査は問題なく行なうことができる。

【0077】また、本実施形態の微生物検出方法では、細菌-抗体複合体の形成を光の散乱により検出したが、これに代えてフルオレセイン等で蛍光標識した抗体を用いて細菌-抗体複合体の形成を蛍光により検出することもできる。この方法により、微生物の検出感度をさらに上げることができる。

【0078】また、抗体に互いに区別可能な蛍光標識を施すことにより、反応した抗体の同定が蛍光の測定のみで容易にできるようになる。これにより、検査の精度を上げることができる。

【0079】

【発明の効果】本発明の微生物検出装置及び微生物の検出方法によれば、緩衝液を満たしたキャピラリーに電圧を印加することにより、キャピラリー内で被検体の細菌と細菌を認識する抗体とを反応させるため、短時間で正確に微生物の同定を行なうことができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】(a)～(d)は、本発明の第1の実施形態に係る微生物検出装置の動作を示す断面図である。

【図2】本発明の第1の実施形態に係る微生物検出装置に用いられるキャピラリーの断面図である。

\*【図3】本発明の第1の実施形態に係る微生物検出方法において、抗体をキャピラリーに注入する方法を示す断面図である。

【図4】本発明の第1の実施形態に係る微生物検出方法において、抗体をキャピラリーに注入するもう1つの方法を示す断面図である。

【図5】本発明の第1の実施形態に係る微生物検出装置に使用できるキャピラリーの例を示す図である。

【図6】(a)～(c)は本発明の第1の実施形態に係る微生物検出装置に使用できるキャピラリーの形状を示した図である。

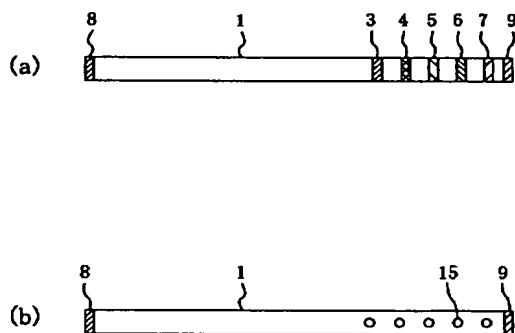
【図7】本発明の第2の実施形態に係る微生物検出装置を概略的に示す図である。

【図8】(a)～(c)は、ELISA法を用いた従来の微生物検出方法を示す図である。

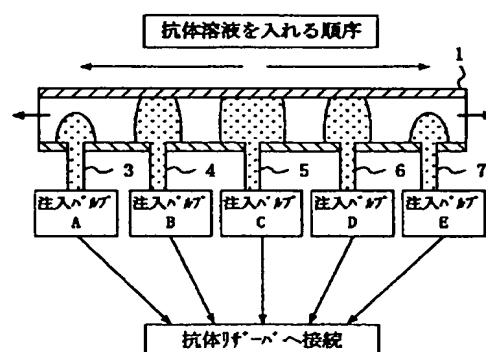
【符号の説明】

1	キャピラリー
2	細菌
3、4、5、6、7	抗体
8	マイナス電極
9	プラス電極
10	直流電源
11	光源
12	細菌-抗体複合体
13	センサー部
14	リザーバ
15	微小孔
16	ガラス板
17	ガラス基板
18、19、20	キャピラリー
21	ドレイン
22	基板
23	キャピラリー

【図2】

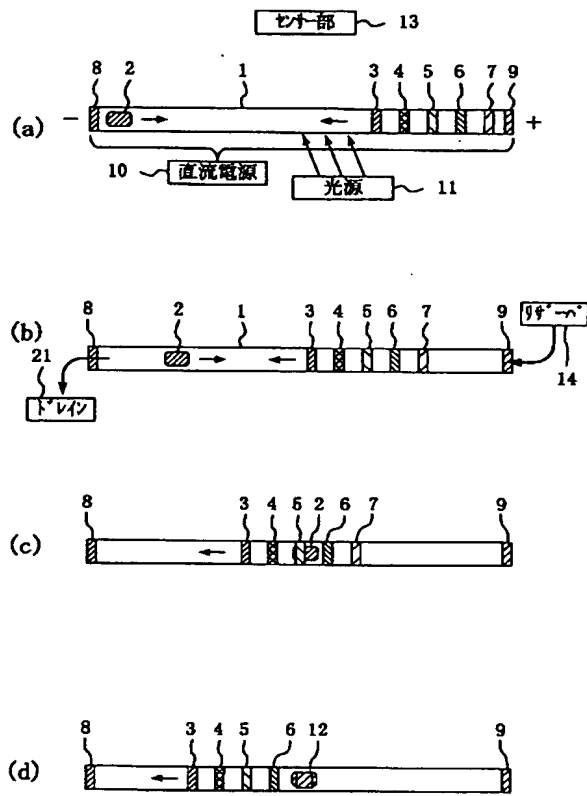


【図3】

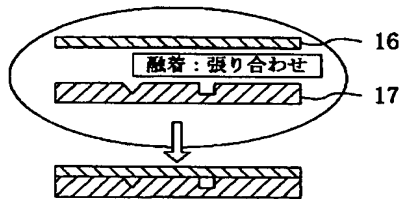




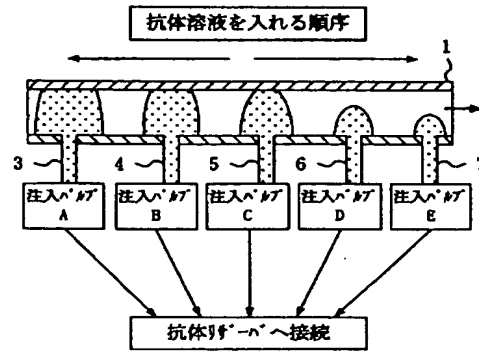
【図1】



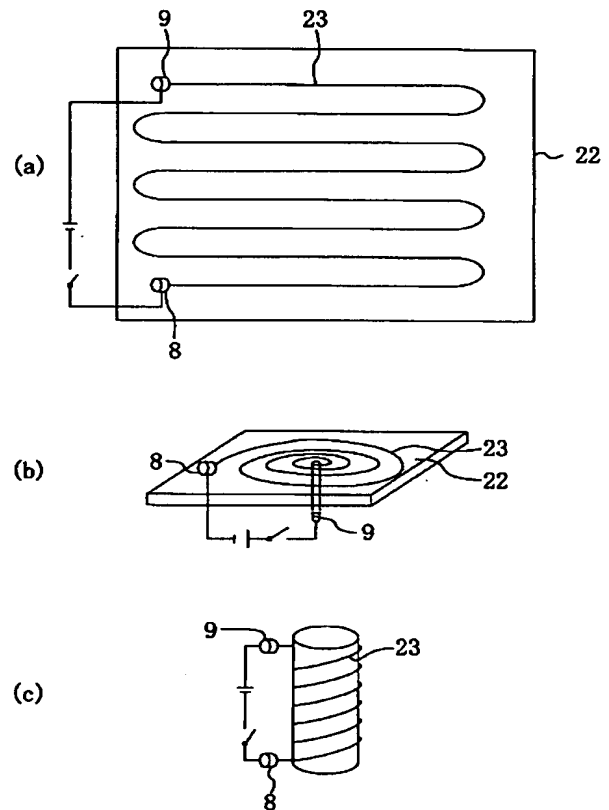
【図5】



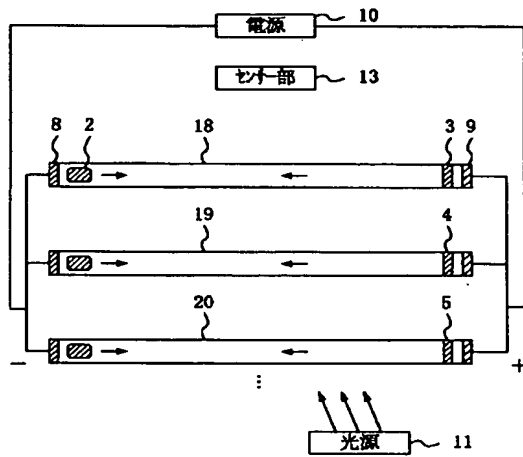
【図4】



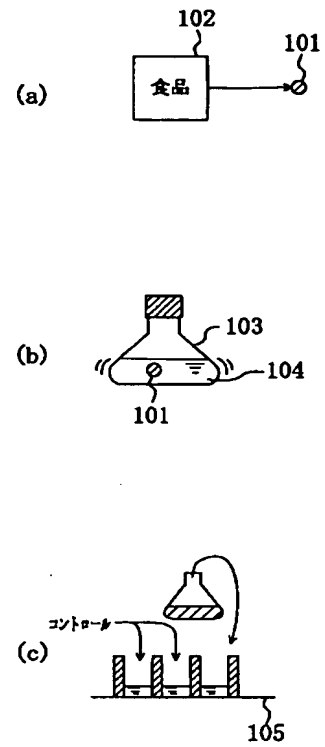
【図6】



【図7】



【図8】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I  
G 0 1 N 27/26

テーマコード (参考)  
3 3 1 K